

Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer BTS (Beltsville Thawing Solution) yang Dimodifikasi pada Penyimpanan Berbeda

The Boar Sperm Viability in Modified BTS (Beltsville Thawing Solution) in Different Storage

N. L. G. Sumardani^{* a}, L. Y. Tuty^b & P. H. Siagian^c

^aFakultas Peternakan Universitas Udayana

^bDepartemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor

^cDepartemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan,
Institut Pertanian Bogor

(Diterima 30-08-2007; disetujui 17-1-2008)

ABSTRACT

The optimal storage temperature for preserve boar semen is 17-18°C. The temperature fluctuations can decrease sperm viability. The aim of this study was to obtain a boar semen extender for Artificial Insemination (AI) at a certain distance area. The observation was based on the sperm viability in modified *Beltsville Thawing Solution* (BTS) extender in different storage, and the effect of storage system i.e.: room temperature (22°C) and styrofoam box (18°C) were conducted for this purpose. The research used a completely randomized design (CRD) with two factorial i.e.: BTS and M-BTS extender (F1), room temperature and styrofoam box (F2). Semen from three years old Yorkshire boars ($n = 3$) were collected twice a week by glove hand method. Semen characteristics and their quality were evaluated macro and microscopically. These semen were added with BTS and M-BTS extender up to fourfold volume (ratio 1 : 3). This is based on the assumption of AI dose of $2 - 3 \times 10^9$ cells/80ml and the sperm motility and viability were evaluated every six hours for 24 hours observation. The results showed that fresh semen characteristics were good, with the percentage of sperm motility $65.56 \pm 2.55\%$ and sperm viability of $87.70 \pm 2.87\%$. The best extender found in this experiment of 24 hours observation was BTS extender with sperm motility $53.33 \pm 3.33\%$ in styrofoam box. In conclusion, BTS extender can maintain the quality of spermatozoa stored in styrofoam box for about 24 hours with sperm motility 40%-50%, and the styrofoam box can be used as an alternative container for insemination program in the field.

Key words: sperm viability, semen extender, storage, boar sperm

PENDAHULUAN

Peternakan babi yang ada di Indonesia masih merupakan peternakan rakyat dalam skala kecil dengan mutu genetik yang masih

* Korespondensi:
Jl. PB Sudirman, Denpasar, Bali 80232,
e-mail: nlg_sumardani@yahoo.com

kurang mendapat perhatian. Selain itu, populasi babi yang ada masih sangat terbatas. Salah satu usaha untuk mencapai tujuan peningkatan genetik dan populasi ternak babi tersebut adalah dengan pemanfaatan teknologi inseminasi buatan (IB) melalui penyediaan sumber spermatozoa yang berasal dari pejantan bermutu unggul, seperti Yorkshire, Landrace dan Duroc.

Produksi semen cair babi sering dihadapkan pada kendala penyimpanannya, khususnya saat pendistribusian kepada konsumen. Hal ini disebabkan semen babi memiliki sifat *voluminous*, yakni volume yang tinggi yaitu 150-200 ml dan konsentrasi spermatozoa yang rendah yaitu $200-300 \times 10^6$ sel/ml (Garner & Hafez, 2000), serta semen babi hanya dapat disimpan dengan tetap mempertahankan mutunya pada kisaran temperatur 15-20°C (Paulenz *et al.*, 2000). Perubahan temperatur akan berpengaruh terhadap struktur fosfolipida membran plasma spermatozoa (Watson, 1996; Chun-Xia *et al.*, 2000).

Persentase fosfatidiletanolamin dan spingomielin pada membran spermatozoa babi sangat tinggi, masing-masing adalah 24% dan 14% (White, 1993). Hal ini menyebabkan membran plasma spermatozoa babi sangat sulit stabil pada temperatur rendah.

Penggunaan semen cair untuk periode waktu yang lama memerlukan pengawetan dengan penambahan bahan pengencer yang mengandung sumber nutrisi, *buffer*, bahan anti

cekaman perubahan temperatur (*cold shock*), dan antibiotik, serta dapat melindungi spermatozoa selama proses pengolahan dan penyimpanan. Karbohidrat, terutama fruktosa, paling banyak digunakan sebagai sumber nutrisi karena lebih mudah dimanfaatkan oleh spermatozoa dan sebagai pelindung terhadap *cold shock*, sementara bahan pengencer *Beltsville Thawing Solution* (BTS) mengandung glukosa sebagai unsur utama karbohidrat (Dube *et al.*, 2004). Berkaitan dengan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh modifikasi pengencer BTS dengan mengganti sumber karbohidrat glukosa dengan fruktosa, dan tempat penyimpanan terhadap viabilitas spermatozoa babi.

MATERI DAN METODE

Sumber semen berasal dari tiga ekor babi jantan dewasa kelamin, dari bangsa Yorkshire, umur tiga tahun, dalam kondisi sehat, dan mempunyai mutu semen baik, yaitu konsentrasi spermatozoa lebih dari 150×10^6 sel/ml dan motilitas spermatozoa lebih dari 60%. Penampungan semen dilakukan pada pagi hari, dua kali seminggu, dengan metode manual (*glove hand method*). Pakan yang diberikan untuk pejantan mengandung protein 18% dan energi 16 MJ (3824,16 kkal/kg), yang terdiri atas dedak padi, dedak jagung, polar, gandum, konsentrat 152, mineral, lisina, dan starbio, dengan total pemberian pakan sebanyak 2,5

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer semen babi

Bahan kimia (g/100ml)	BTS	M-BTS
Glukosa	3,700	-
Fruktosa	-	3,700
EDTA	0,125	0,125
Natrium sitrat	0,600	0,600
Natrium bikarbonat	0,125	0,125
Kalium klorida	0,075	0,075
Penisilin (IU) : Streptomisin (mg)	100000 : 100	100000 : 100
Aquabides (ml)	100	100

Keterangan: BTS=Beltsville Thawing Solution, M-BTS=BTS yang dimodifikasi, EDTA=Ethylenediamine-tetra-acetic acid

kg/ekor/hari. Bahan pengencer semen yang digunakan adalah *Beltsville Thawing Solution* (BTS) dan BTS yang dimodifikasi (M-BTS) dengan mengganti sumber karbohidrat (glukosa) dengan fruktosa (Tabel 1).

Semen yang diperoleh dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis, meliputi pemeriksaan volume (ml), warna, pH dan pemeriksaan konsistensi atau kekentalan, konsentrasi spermatozoa (10^6 sel/ml), persentase sperma motil (M%) dan sperma hidup (SH%) serta persentase normalitas dan abnormalitas spermatozoa. Semen yang telah dievaluasi dan memenuhi syarat, selanjutnya diencerkan dengan perbandingan 1 : 3. Asumsi berdasarkan dosis IB yakni konsentrasi spermatozoa motil mencapai 2000 - 3000 x 10^6 sel dalam 80 ml.

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan kombinasi perlakuan yang disusun dalam pola faktorial 2 x 2 (dua macam pengencer x dua tempat penyimpanan). Bahan pengencer adalah BTS dan M-BTS. Tempat penyimpanan adalah pada ruang terbuka (22°C) dan kotak *styrofoam* (18°C). Waktu pengamatan dilakukan setiap enam jam, mulai dari pengamatan jam ke-0 hingga jam ke-24 penyimpanan. Pejantan sebanyak tiga ekor digunakan sebagai ulangan. Semua sampel yang diberi perlakuan masing-masing diulang sebanyak tiga kali. Peubah yang diamati meliputi karakteristik semen segar dan viabilitas spermatozoa setelah pengenceran dan penyimpanan. Semua data dianalisa dengan *analysis of variance* (ANOVA) menggunakan program SAS (2005) dan bila terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) atau sangat nyata ($P < 0,01$) dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel & Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar

Hasil evaluasi semen segar merupakan pemeriksaan awal semen yang dijadikan dasar untuk menentukan kelayakannya yang akan diproses lebih lanjut. Pemeriksaan dilakukan di laboratorium dengan temperatur ruang 20-

22°C dan kelembaban 80%-90%. Semen yang diperoleh dari 9 kali penampungan mempunyai mutu yang cukup baik, bersifat voluminous dengan motilitas spermatozoa di atas 60% dan konsentrasi spermatozoa di atas 150×10^6 sel/ml (Tabel 2).

Secara umum, karakteristik semen segar yang dihasilkan tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian dari peneliti lainnya. Robert (2006) dan Ax *et al.* (2000) menyatakan volume semen babi tanpa gelatin berkisar 200-250 ml, dengan warna putih susu dan konsistensi encer, serta dengan pH rata-rata $7,40 \pm 0,2$ (Gadea, 2003). Beberapa faktor yang mempengaruhi volume, warna, konsistensi dan pH semen adalah variasi umur, tingkat rangsangan, frekuensi ejakulasi, kualitas pakan (Johnson *et al.*, 2000), fraksi semen yang ditampung pra-spermatozoa atau kaya-spermatozoa (Robert, 2006), perbedaan ras, lingkungan serta perbedaan buffer (Evans & Maxwell, 1987).

Motilitas, konsentrasi, volume dan persentase abnormalitas spermatozoa berkaitan erat dengan kemampuan spermatozoa dalam fertilisasi, serta dapat menggambarkan tingkat pengenceran dan banyaknya betina yang dapat diinseminasi. Menurut Bonet *et al.* (1993); Garner & Hafez (2000); Johnson *et al.* (2000); Hirai *et al.* (2001); Bassol *et al.* (2005), persentase abnormalitas spermatozoa babi per

Tabel 2. Nilai karakteristik semen segar babi

Karakteristik semen	Nilai rata-rata \pm standar deviasi (SD)	Standar*
Volume tanpa gelatin (ml)	214,44 \pm 52,41	200-250
Warna	putih susu	putih susu
Konsistensi	encer	encer
pH	7,78 \pm 0,44	7,40 \pm 0,2
Motilitas (%)	65,56 \pm 2,55	≥ 60
Spermatozoa hidup (%)	87,76 \pm 2,87	≥ 80
Normalitas (%)	93,18 \pm 4,00	≥ 80
Konsentrasi (10^6 sel/ml)	191,65 \pm 71,1	200-300

Keterangan: * Johnson *et al.* (2000); Gadea (2003); Robert (2006).

ejakulat tidak boleh lebih dari 20%. Adapun faktor-faktor yang dapat mempengaruhi motilitas, konsentrasi dan abnormalitas spermatozoa, yakni genetik, umur, cahaya dan temperatur, manajemen pemeliharaan, frekuensi penampungan dan pengenceran serta lingkungan (Everett & Beans 1982; Shukla *et al.* 1992).

Viabilitas Semen Segar pada Temperatur Penyimpanan 22°C (Ruang Terbuka) dan 18°C (Kotak Styrofoam)

Rataan persentase motilitas dan spermatozoa hidup semen segar masing-masing mencapai $65,56 \pm 2,55\%$ dan $87,76 \pm 2,87\%$. Viabilitas semen segar dalam penyimpanan ruang terbuka (22°C) dan kotak *styrofoam* (18°C) dalam penelitian ini menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) antar kedua perlakuan.

Semen segar yang disimpan dalam ruang terbuka (22°C) dapat bertahan selama enam jam dengan motilitas 48,49% dan rata-rata penurunan motilitas spermatozoa pada enam jam berikutnya (12 jam penyimpanan) mencapai 15%-20%. Sementara itu, semen segar yang ditempatkan dalam kotak *styrofoam* (18°C)

dapat bertahan hingga 18 jam penyimpanan dengan persentase motilitas mencapai 45%.

Kecenderungan penurunan persentase motilitas dan spermatozoa hidup semen segar selama penyimpanan pada temperatur ruang (22°C) dapat disebabkan oleh aktivitas seluler yang hampir optimum, sehingga substrat energi di dalam plasma semen babi cepat habis dan terdapat akumulasi asam laktat sebagai sisa metabolisme dengan konsentrasi lebih tinggi yang bersifat toksik pada spermatozoa. Penyimpanan pada kotak *styrofoam* (18°C) menyebabkan aktivitas seluler berjalan lebih lambat (tidak optimum). Hal ini sesuai dengan pendapat Paulenz *et al.* (2000) bahwa semen babi hanya dapat disimpan dengan tetap mempertahankan kualitasnya pada kisaran temperatur 15-20°C. Faktor-faktor yang mempengaruhi viabilitas semen segar selama penyimpanan adalah motilitas dan konsentrasi spermatozoa, serta derajat keasaman (pH). Motilitas spermatozoa kurang dari 60% dan konsentrasi spermatozoa kurang dari 200×10^6 sel/ml mempunyai daya tahan yang singkat. Sementara pH semen segar mengalami perubahan selama penyimpanan dan menyebabkan spermatozoa mengalami kematian.

Tabel 3. Persentase motilitas dan spermatozoa hidup semen segar dalam penyimpanan ruang terbuka dan kotak *styrofoam*

Peubah (%)	Pengamatan (jam)	Tempat penyimpanan	
		RT (22°C)	KS (18°C)
Motilitas	0	$65,56 \pm 2,55$	$65,56 \pm 2,55$
	6	$48,89 \pm 10,72$	$60,56 \pm 2,10$
	12	$40,83 \pm 13,10^b$	$55,56 \pm 1,92^a$
	18	$32,78 \pm 15,49$	$45,00 \pm 4,41$
	24	$19,44 \pm 12,95$	$34,44 \pm 7,70$
Spermatozoa hidup	0	$87,76 \pm 2,87$	$87,76 \pm 2,87$
	6	$66,01 \pm 7,18$	$78,27 \pm 2,85$
	12	$55,75 \pm 10,45^b$	$68,78 \pm 3,35^a$
	18	$45,50 \pm 14,00$	$56,39 \pm 3,02$
	24	$25,44 \pm 12,65$	$44,00 \pm 9,12$

Keterangan: RT=ruang terbuka, KS=kotak *styrofoam*. Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Viabilitas Semen Cair dalam Bahan Pengencer dan Penyimpanan Berbeda

Viabilitas semen cair yang meliputi persentase motilitas dan spermatozoa hidup dalam pengencer BTS dan M-BTS pada penelitian ini menunjukkan hasil yang berbeda antar kedua perlakuan. Demikian pula halnya dalam penyimpanan semen cair pada ruang terbuka (22°C) dan kotak styrofoam (18°C) menunjukkan hasil yang berbeda antar kedua perlakuan (Tabel 4).

Penurunan persentase motilitas spermatozoa dalam pengencer M-BTS terjadi lebih cepat dibandingkan dengan menggunakan pengencer BTS. Hal ini terjadi karena sumber nutrisi bagi spermatozoa mulai berkurang mengingat komponen karbohidrat dalam M-BTS berasal dari fruktosa, sedangkan spermatozoa sangat mudah memanfaatkan fruktosa sebagai sumber energi. Garner & Hafez (2000) menyatakan bahwa fruktosa di dalam pengencer semen dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi baik dalam kondisi anaerob (pada saat penyimpanan), maupun kondisi aerob (pada saluran reproduksi betina). Perombakan fruktosa menjadi energi terjadi lebih cepat karena fruktosa dapat langsung

diubah menjadi fruktosa 6-fosfat (6P), sedangkan glukosa sebelum menjadi fruktosa 6P harus diubah terlebih dahulu menjadi glukosa 6P kemudian menjadi fruktosa 6P dan akhirnya menjadi fruktosa bi-fosfat untuk menghasilkan ATP (energi bagi spermatozoa) dan asam laktat sebagai sisa metabolisme, yang mempercepat terjadinya penurunan viabilitas spermatozoa.

Saat temperatur rendah atau di bawah 20°C, fosfolipida pada membran sel spermatozoa direduksi, sehingga sel mengalami kerusakan permanen dan mengurangi fungsi membran sel (White, 1993). Hal yang sama juga dinyatakan oleh Watson (1996) bahwa *cold shock* berpengaruh terhadap komposisi membran plasma spermatozoa, yaitu pada temperatur rendah terjadi perubahan struktur fosfolipida membran plasma dari fase cair menjadi fase gel, yang dapat menyebabkan kerusakan membran plasma secara permanen. Kerusakan membran plasma menyebabkan terlepasnya enzim aspartat-aminotransferase (AspAT) ke dalam plasma semen, sehingga produksi ATP akan terhenti dan menyebabkan spermatozoa tidak dapat bergerak (Colenbrander *et al.*, 1992).

Berkaitan dengan pelayanan IB, apabila syarat minimal persentase motilitas adalah

Tabel 4. Persentase motilitas dan spermatozoa hidup semen cair dengan pengencer BTS dan M-BTS dalam penyimpanan ruang terbuka dan kotak *styrofoam*

Peubah (%)	Pengamatan (jam)	Ruang terbuka (22°C)		Kotak <i>styrofoam</i> (18°C)	
		BTS	M-BTS	BTS	M-BTS
Motilitas	0	65,56±2,55	65,56±2,55	65,56±2,55	65,56±2,55
	6	58,89±2,55	57,22±2,55	63,61±1,73	61,67±1,44
	12	55,28±3,76	51,67±3,00	61,67±1,67	57,78±1,92
	18	51,67±5,00 ^a	46,11±4,19 ^b	57,50±2,20	52,22±3,47
	24	41,11±6,94	29,44±12,95	53,33±3,33 ^a	46,67±5,77 ^b
Spermatozoa hidup	0	87,76±2,87	87,76±2,87	87,76±2,87	87,76±2,87
	6	75,34±6,23	72,78±5,44	83,54±3,89	81,32±4,40
	12	69,58±5,51	64,30±5,14	79,32±5,70	74,88±6,81
	18	63,82±6,10 ^a	55,83±5,33 ^b	71,66±3,29	67,38±3,20
	24	47,84±5,47	37,36±15,68	64,01±0,95 ^a	59,88±1,91 ^b

Keterangan: BTS= *Beltsville Thawing Solution*, M-BTS= BTS yang dimodifikasi. Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

40%, maka semen dengan pengencer M-BTS yang disimpan pada kotak styrofoam (18°C) masih layak untuk digunakan (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa untuk kepentingan di lapangan terutama untuk pengiriman semen ke daerah tertentu, dapat menggunakan kotak *styrofoam* sebagai salah satu media penyimpanan. Semen harus dikemas dan disimpan dalam sebuah kontainer atau kotak, dan dilindungi dari cekaman stres fisik, terutama terhadap guncangan, dengan menggunakan material dari *styrofoam*, untuk menjaga temperatur 18°C (Kevin, 2000). Penggunaan *styrofoam* memiliki beberapa kelebihan, yaitu lebih ringan dan bentuk serta ukuran dapat diatur.

KESIMPULAN

Pengencer BTS adalah pengencer yang lebih baik dibandingkan dengan M-BTS dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan. Kotak *styrofoam* dapat digunakan sebagai media penyimpanan semen cair untuk kepentingan pendistribusiannya ke daerah tertentu dalam jangka waktu tertentu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ax, R. L., M. Dally, B. A. Didion, R. W. Lenz, C. C. Love, D. D. Varner, B. Hafez & M. E. Bellin. 2000. Semen Evaluation. In: E. S. E. Hafez & B. Hafez (Eds.). Reproduction in farm Animals. 7th Ed. Williams & Wilkins, USA.
- Bassol, J., E. Kádár, M. D. Briz, E. Pinart, S. Sancho, N. Garcia-Gil, E. Badia, A. Pruneda, M. G. Coll, E. Bussalleu, M. Yeste & S. Bonet. 2005. *In vitro* culture of boar epididymal epithelial cells. Theriogenology 63:363-369.
- Bonet, S., M. Briz & A. Fradera. 1993. Ultrastructural abnormalities of boar spermatozoa. Theriogenology 40:383-396
- Chun-Xia, Z. & Y. Zeng-Ming. 2000. Evaluation on sperm quality of freshly ejaculated boar semen during *in vitro* storage under different temperatures. Theriogenology 53:1477-1488.
- Colenbrander, B., A. R. Fazeli, A. Van Buiten, J. Parlevliet & B. M. Gadella. 1992. Assesment of sperm cell membran integrity in the horse. Act. Vet. Scand. Supl. 88:49-58.
- Dube, C., M. Beaulieu, C. Reyes-Moreno, C. Guillemette & J. L. Bailey. 2004. Boar sperm storage capacity of BTS and Androhep Plus: viability, motility, capacitation, and tyrosine phosphorylation. Theriogenology 62:874-886.
- Evans, G. & W. M. C. Maxwell. 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goat. Butterworths, Sydney.
- Everett, R. W. & B. Bean. 1982. Environmental influence on semen output. J. Dairy Sci. 65:1303-1310.
- Gadea, J. 2003. Semen extenders used in the artificial insemination of swine. Spanish J. of Agric. Research 1:17-27.
- Garner, D. L. & E. S. E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: E. S. E. Hafez & B. Hafez (Eds.). Reproduction in farm Animals. 7th Ed. Williams & Wilkins, USA.
- Hirai, M., A. Boersma, A. Hoefflich, E. Wolf, J. Foll, T. R. Aumuller & J. Braun. 2001. Objectively measured sperm motility and sperm head morphometry in boars (*Sus scrofa*): relation to fertility and seminal plasma growth factors. J. Androl 22:104-110.
- Johnson, L. A., K. F. Weitze, P. Fiser & W. M. C. Maxwell. 2000. Storage of boar semen. J Anim. Sci. 62:143-172.
- Kevin, R. 2000. Fresh Boar Semen. In: Swine News. College of Agriculture & Life Sciences. 23: 11
- Paulenz, H., E. Kommisrud & P. O. Hofmo. 2000. Effect of long-term storage at different tempertures on the quality of liquid boar semen. Reprod. Dom. Anim. 35: 83-85.
- Robert, V. K. 2006. Semen Processing, Extending & Storage for Artificial Insemination in Swine. Dep. of Animal Science University of Illinois.
- [SAS] Statistical Analysis Software. 2002. SAS 9.1 Help and Documentation. SAS Institute Inc., USA.
- Shukla, S. N., B. B. Sigh, N. S. Tomar & B. S. Misra. 1992. Factor effecting spermatozoa motility in preserved semen. J. Indian Vet. 69:856-857.
- Steel, R. G. D. & J. H. Torrie. 1993. Principles and Procedures of Statistics. 2th Ed. International Student Edition, London.
- Watson, P. F. 1996. Cooling of spermatozoa and fertilizing capacity. Reprod. Domest. Anim. 31:135-140.
- White, I. G. 1993. Lipid and calcium uptake of sperm in relation to cold shock and preservation: A review. Reprod. Fertil. Dev. 5:639-658.